

杨晨,刘宇宏,杨慧玲. 小鼠模型脂肪组织中 GIPR 信号传导在胰岛素抵抗和肝脂肪变性中作用 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(4): 475-481.

Yang C, Liu YH, Yang HL. Role of gastric inhibitory peptide receptor signal transduction in adipose tissue in insulin resistance and hepatic steatosis in mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(4): 475-481.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.04.008

小鼠模型脂肪组织中 GIPR 信号传导在胰岛素抵抗和肝脂肪变性中作用

杨晨^{1*}, 刘宇宏², 杨慧玲³

(1. 西安交通大学医学院附属医院三二〇一医院超声科, 陕西 汉中 723000; 2. 延安大学医学院, 陕西 延安 716000; 3. 解放军第四军医大学第一附属医院西京医院消化内科, 西安 710032)

【摘要】 目的 探讨采用超声评估小鼠模型脂肪组织中 GIP 受体 (GIPR) 信号传导在胰岛素抵抗和肝脂肪变性中作用。**方法** 选择 4 周龄 GIPR 基因敲除 (GIPR^{adipo-/-}) 和野生型 (WT) 小鼠各 16 只, 给予正常脂肪饮食 (CFD)、高脂肪饮食 (HFD), 每组 8 只, 连续喂养 15 周。记录小鼠体重变化, 喂养 5、8、10、12 和 15 周后, 记录小鼠的血糖、胰岛素和总 GIP 水平; 采用实时定量 RT-PCR 测定小鼠脂肪组织中相关炎症细胞因子、GIPR 信号传导通路中相关基因表达的变化; 采用超声对小鼠肝体积、肝重量和肝中脂肪含量进行定量评估; 利用蛋白质印迹分析评估胰岛素治疗后在脂肪、肝和骨骼肌组织中的 Akt 磷酸化。**结果** 在 HFD 喂养的条件下, 与 WT 小鼠相比, GIPR^{adipo-/-} 小鼠的体重显著降低。HFD 喂养的 GIPR^{adipo-/-} 小鼠降低了胰岛素抵抗, 肝重量和肝脂肪变性。与 HFD 喂养的 WT 小鼠相比, GIPR^{adipo-/-} 小鼠血浆白细胞介素 6 (IL-6) 降低。**结论** 脂肪组织中的 GIPR 信号传导在体内 HFD 诱导的胰岛素抵抗和肝脂肪变性中起关键作用, 这可能涉及 IL-6 信号传导。

【关键词】 脂肪组织; GIPR 信号传导; 胰岛素抵抗; 肝脂肪变性

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021) 04-0475-07

Role of gastric inhibitory peptide receptor signal transduction in adipose tissue in insulin resistance and hepatic steatosis in mice

YANG Chen^{1*}, LIU Yuhong², YANG Huiling³

(1. Ultrasonography Department, the 3201 Affiliated Hospital of Xi'an Jiao Tong University Medical College, Hanzhong 723000, China. 2. Medical School of Yan'an University, Yan'an 716000. 3. Department of Gastroenterology, Xijing Hospital, the First Affiliated Hospital of the Fourth Military Medical University of Chinese PLA, Xi'an 710032)

Corresponding author: YANG Chen. E-mail: y1969c@163.com

【Abstract】 Objective To determine the importance of gastric inhibitory peptide receptor (GIPR) signaling for insulin resistance and hepatic steatosis in the adipose tissue of mice. **Methods** Four-week-old adipocyte-specific GIPR knockout (GIPR^{adipo-/-}) and wild-type (WT) mice were fed a control (CD) or high-fat (HFD) diet for 15 weeks (n=8 per group). Changes in body mass were recorded, and the circulating glucose, insulin, and total GIP concentrations were measured after 5, 8, 10, 12 and 15 weeks of feeding. Quantitative PCR was used to measure the changes in the expression of genes involved in inflammation and GIPR signaling in adipose tissue; the volume, mass, and fat content of the liver were

[基金项目] 陕西省重点研发计划 (2019SF-121)。
Funded by Key R & D Plan of Shaanxi Province (2019SF-121)。
[作者简介] 杨晨 (1969—), 男, 主治医师, 本科, 研究方向: 超声评估脂肪肝中的生物指标。Email: y1969c@163.com

quantitatively assessed using ultrasonography; and insulin-stimulated AKT phosphorylation in adipose tissue, liver, and skeletal muscle was evaluated using western blot analysis. **Results** During HFD-feeding, the body mass of the $GIPR^{adipo-/-}$ mice was significantly lower than that of WT mice, and they also demonstrated lower insulin resistance, liver mass, and hepatic steatosis. In addition, the plasma interleukin 6 (IL-6) concentration was lower in the $GIPR^{adipo-/-}$ mice than in the HFD-fed WT mice. **Conclusions** GIPR signaling in adipose tissue plays a role in HFD-induced insulin resistance and hepatic steatosis *in vivo*, and this may be mediated through IL-6.

【Keywords】 adipose tissue; gastric inhibitory peptide receptor signal transduction; insulin resistance; fatty liver

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

肥胖会导致胰岛素抵抗,其特点是空腹和餐后通过高胰岛素血症以维持血糖正常^[1]。它是发展为 2 型糖尿病和心血管疾病的主要危险因素之一^[2-3]。减肥可以使高胰岛素血症正常化,并改善 2 型糖尿病和动脉硬化的进展。

抑胃多肽/葡萄糖依赖性胰岛素性多肽(GIP)是一种肠内分泌 K 细胞消化后分泌的肠促胰岛素并通过 GIP 受体(GIPR)增强胰岛素分泌^[4]。HFD 诱导肠内分泌 K 细胞分泌 GIP^[5],有文献指出,与正常脂肪饮食的老鼠相比,HFD 的肥胖老鼠 B 细胞对 GIP 的反应使胰岛素分泌增加^[6],这表明在 HFD 诱导的肥胖条件下,GIP 在餐后高胰岛素血症中起关键作用。体外研究表明,GIP 通过增加脂蛋白脂肪酶诱导脂肪组织的能量积累(LPL)通过 CREB 和 CREB 调节的转录共激活因子 2(TORC2)介导途径表达,并通过 akt 介导途径增加 LPL 酶活性和浆膜 GLUT4 表达^[7]。因此,在 HFD 条件下,GIP 和肥胖之间有很强的联系^[5]。GIPR 敲除($GIPR^{-/-}$)小鼠,GIP 拮抗剂和 GIP 免疫中和抑制 GIPR 信号转导可改善 HFD 喂养条件下的肥胖症,提示该情况可能是由于缺乏对脂肪组织的直接和间接 GIP 作用^[8-9]。但是,GIPR 信号传导对体内脂肪组织的作用仍不清楚。

在本研究中,建立了 $GIPR^{adipo-/-}$ 小鼠,采用超声评估脂肪组织中表达的 GIP 受体在体内 HFD 诱导的肥胖和胰岛素抵抗中是否起作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

采用小鼠 B6N BAC 克隆,构建靶向载体。构建的靶向载体注射到 C57BL/6 小鼠胚胎干细胞中,建立 Neo 耐药株。从转基因小鼠的杂交中获得了 $GIPR^{fl/fl}$ 小鼠。通过 $GIPR^{fl/fl}$ 小鼠繁殖脂肪细胞蛋白 2-Cre (Ap2-Cre)小鼠来建立杂合子小鼠

($GIPR^{adipo+/-}$)。通过与 $GIPR^{adipo+/-}$ 小鼠杂交获得纯合($GIPR^{adipo-/-}$)小鼠。 $GIPR^{fl/fl}$ 小鼠用作野生型小鼠(WT)。清洁级 $GIPR^{adipo-/-}$ 和 WT 小鼠各 16 只,7 周龄,体重约为 20 g,来自西安交通大学实验动物中心【SCXK(陕)2020-001】,饲养于西安交通大学实验动物中心实验室【SYXK(陕)2020-001】。各组小鼠饲喂 CFD(能量中 10% 的脂肪)或 HFD(能量中 60% 的脂肪),每组 8 只小鼠,持续 15 周。饲养环境:相对湿度约为 50%,温度控制在 22 ~ 25℃,饲养于不锈钢丝笼盖,保持室内空气新鲜,氨浓度不超过 20 ppm,换气次数为每小时 15 次。动物实验通过西安交通大学医学院附属医院动物伦理审查委员会的审批(审批号:DW-HZ3201-005)。

1.1.2 主要试剂与仪器

TRIzol 试剂(Invitrogen),PrimeScript RT 试剂盒(TaKaRa Bio),ELISA 试剂盒:胰岛素(Shibayagi),C 肽(Shibayagi),总 GIP(Shibayagi),脂联素和瘦素(Millipore),白介素 6(IL-6)(R&D Systems),LDL-C、HDL-C、TG、NEFA 检测试剂盒(Sekisui Medical)。

实时 PCR 系统(ABI,StepOnePlus,美国),BZ Analyzer 软件(KEYENCE Corp.,日本),GE B 超扫描仪(GE Healthcare,Logiq P5,美国),图像软件(NIH,ImageJ 1.41o,美国)。

1.2 方法

1.2.1 PCR 和微阵列芯片分析

使用 TRIzol 试剂提取总 RNA,采用 PrimeScript RT 试剂盒将 1 μ g 总 RNA 反转录成 cDNA。采用 ABI 实时 PCR 系统进行实时定量 PCR。采用 GAPDH 或 β -肌动蛋白作为内参对每个样本中表达水平进行标准化。采用 8 × 60 K SurePrint G3 基因表达微阵列芯片进行分析。

1.2.2 酶联免疫吸附(ELISA)

采用胰岛素、C 肽、总 GIP、白介素 6(IL-6)、脂联素和瘦素 ELISA 试剂盒分别测量小鼠胰岛素、C 肽、总 GIP、IL-6、脂联素和瘦素的水平。

1.2.3 口服葡萄糖、胰岛素和丙酮酸耐量试验

禁食 16 h 后,进行口服葡萄糖耐量测试(OGTT)(1 g/kg 体重)。通过葡萄糖氧化酶法测量血糖水平。计算了胰岛素抵抗的 HOMA(HOMA-IR)。对于胰岛素耐受性试验(ITT),禁食 2 h 后将人胰岛素按 $0.75 \times$ 体重(kg)的剂量对两组小鼠进行皮下注射。对于丙酮酸耐受性测试(PTT),禁食 16 h 后,将丙酮酸按 1 g/kg 体重剂量皮下注射到 HFD 喂养的小鼠中。

1.2.4 脂质指标

HFD 喂养 15 周后,取小鼠空腹血浆标本。通过 LDL-C 测定试剂盒、HDL-C 检测试剂盒、TG 检测试剂盒和非酯化脂肪酸(NEFA)检测试剂盒测定 LDL-C、HDL-C、甘油三酯(TG)和 NEFA 水平。提取肝脂质,并测量 TG 和总胆固醇水平。

1.2.5 超声对肝重量和脂肪含量的定量测量

HFD 喂养 15 周后,将小鼠用戊巴比妥麻醉,固定在小室内,由专业的超声医师对小鼠进行肝超声检查,并使用 NIH 图像软件对肝体积、肝重量和肝中脂肪含量进行定量评估^[10]。

1.2.6 免疫组化

将肝和内脏脂肪样本固定在 10% 福尔马林缓冲液中,包埋在石蜡中,切成 3 μ m 的切片。肝的石蜡切片用苏木精和曙红染色。采用具有 BZ-8100 系统的显微镜拍摄图像。内脏脂肪切片用 3% BSA 封闭,并在 4°C 下与兔抗 perilipin-2 单克隆抗体一起孵育过夜,然后在室温下与二抗孵育 1 h。免疫染色后,通过 BZ Analyzer 软件分析脂肪细胞平均大小。

1.2.7 免疫印迹

将冷冻的组织提取物切碎并在缓冲液中进行匀浆,然后 12 377 r/min 离心 5 min,对蛋白质进行免疫印迹分析,采用了抗 Akt 和抗磷酸化 Akt(Ser473)抗体进行分析。

1.2.8 细胞培养和体外实验

为了研究 GIP 对分化的 3T3-L1 脂肪细胞中 IL-6 表达影响。在 10 μ g/mL 胰岛素,0.5 μ mol/L 异丁基甲基黄嘌呤,2.5 μ mol/L 地塞米松和 10% FBS/DMEM 中培养诱导 3T3-L1 细胞。在 10% FBS/DMEM 与 10 μ g/mL 胰岛素中孵育 2 d 后,每 2 d 更换 1 次培养基。在分化的第 9 天,将 3T3-L1 脂肪细胞用 100 nmol/L 人 GIP 和 2.5 μ mol/L 二肽

基肽酶 4 抑制剂 K579 预处理 3 h,然后分别在 5 ng/mL 或 10 ng/mL 小鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)条件下,用 100 nmol/L 人 GIP 和 2.5 μ mol/L 二肽基肽酶 4 抑制剂处理 24 h,然后测定各组中 IL-6 表达水平。

1.3 统计学分析

本研究采用 IBM SPSS Statistics 20.0 软件开展分析。所有数据均采用平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用 *t* 检验和单因素方差分析 Bonferroni 事后检验进行数据分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CFD 喂养条件下,脂肪组织中 GIPR 缺乏对体重、葡萄糖耐量和胰岛素敏感性的影响

在 CFD 喂养条件下,WT 和 GIPR^{adipo-/-}小鼠的体重增加无显著性差异,两组小鼠间血糖水平、胰岛素水平、GIP 总水平差异无显著性。与 WT 小鼠相比,GIPR^{adipo-/-}小鼠的内脏和皮下脂肪中 GIPR mRNA 的表达水平显著降低了 90%,两组间 GIPR mRNA 在胰岛、脑和十二指肠中的表达水平差异无显著性(见表 1)。

2.2 HFD 喂养条件下脂肪组织中 GIPR 缺乏对体重、葡萄糖耐量和胰岛素敏感性的影响

在 HFD 喂养下,GIPR^{adipo-/-}小鼠的体重增加明显低于 WT 小鼠(图 1A)。两组之间的血糖和总 GIP 水平无统计学差异。与 WT 小鼠相比,GIPR^{adipo-/-}小鼠的 C 肽水平和胰岛素水平显著降低($P < 0.05$),但两组之间的食物摄入量差异不显著。此外,两组之间的葡萄糖 AUC、胰岛素的 AUC 和 GIP 的 AUC 差异均无统计学意义(见表 2)。

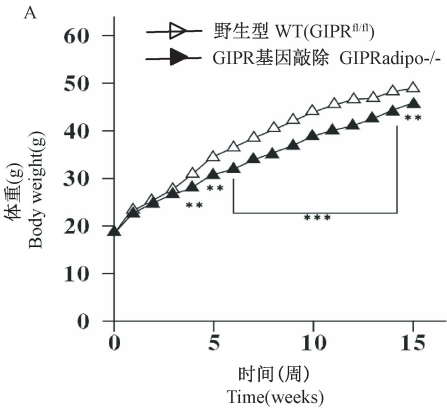
GIPR^{adipo-/-}小鼠的 HOMA-IR 值显著低于 WT 小鼠($P < 0.001$)。ITT 数据显示,与 WT 小鼠相比,GIPR^{adipo-/-}小鼠的血糖水平显著降低($P < 0.001$)。与 WT 小鼠相比,GIPR^{adipo-/-}小鼠 PTT 期间血糖水平显著降低($P = 0.009$)(见表 2)。此外,与 WT 小鼠相比,GIPR^{adipo-/-}小鼠的组织中 Akt 磷酸化都增加(见图 1B)。

GIPR^{adipo-/-}小鼠的空腹 TG 水平显著低于 WT 小鼠。两组之间的 LDL-C、HDL-C 和 NEFA 水平无显著差异(见表 3)。以上结果表明,在 HFD 条件下,脂肪组织中的 GIPR 缺乏会降低肝胰岛素抵抗。

表 1 CFD 喂养条件下,脂肪组织中 GIPR 缺乏对体重,葡萄糖耐量和胰岛素的影响

Table 1 Effect of GIPR deficiency in adipose tissue on body weight, glucose tolerance and insulin were observed under CFD-fed conditions

参数 Parameters	WT 小鼠 WT mice	GIPR ^{adipo-/-} 小鼠 GIPR ^{adipo-/-} mice	P 值 P value
体重 (kg) Body weight (kg)	31.65 ± 2.13	32.71 ± 1.89	0.328
血糖 AUC (min × mg/dL) Blood glucose AUC (min × mg/dL)	22521.12 ± 786.23	19682.38 ± 621.32	0.121
胰岛素 AUC (min × pg/mL) Insulin AUC (min × pg/mL)	10023.65 ± 376.87	8319.43 ± 342.89	0.092
GIP AUC (min × pg/mL)	11872.67 ± 409.54	12984.27 ± 398.76	0.231
胰岛 Islet	0.75 ± 0.03	0.55 ± 0.02	0.076
相对 GIPR mRNA 表达水平 GIPR mRNA/GAPDH mRNA			
内脏脂肪 Visceral fat	10.21 ± 0.98	1.23 ± 1.06	0.005
皮下脂肪 Subcutaneous fat	13.26 ± 1.23	1.09 ± 0.86	0.003
脑 Brain	0.82 ± 0.07	1.21 ± 0.94	0.129
十二指肠 Duodenum	3.76 ± 0.45	3.03 ± 0.24	0.281



注:与 WT 小鼠相比, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ 。

图 1 小鼠的体重变化及不同组织中的总 Akt(P)和磷酸化-Akt(Ser473)结果

Note. Compared with WT mice, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$.

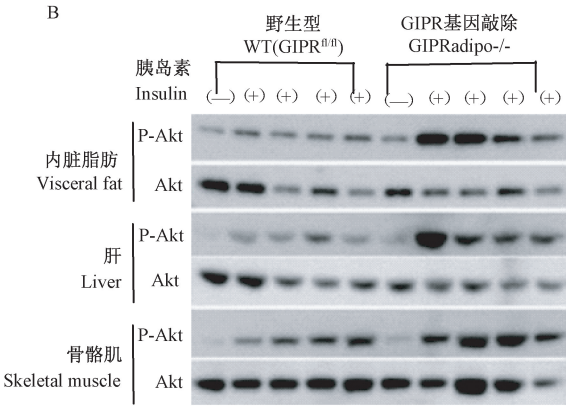


Figure 1 Changes in body weight of mice and results of total Akt (P) and phosphorylated -Akt (Ser473) in different tissues

2.3 脂肪组织中的 GIPR 缺乏可减少 HFD 喂养小鼠的肝脂肪变性,但不能减少脂肪量

通过对 perilipin-2 进行免疫染色来比较脂肪细胞的大小,两组之间的脂肪细胞大小无显著性差异(图 2A)。超声结果显示,GIPR^{adipo-/-}小鼠肝体积、脂肪含量及肝重量显著低于 WT 小鼠。肝的组织学分析表明,GIPR^{adipo-/-}小鼠的脂滴大小和数量均比 WT 小鼠小(图 2B),此外,GIPR^{adipo-/-}小鼠的肝中 TG 含量显著低于 WT 小鼠,但总胆固醇含量差异无显著性(见表 4)。结果表明,在 HFD 喂养的条件下,脂肪组织中的 GIPR 缺乏可减轻肝脂肪变性。

2.4 GIPR 缺乏抑制脂肪组织中 HFD 诱导的 IL-6 mRNA 表达

两组在 HFD 喂养的条件下,TNF- α 、单核细胞趋化蛋白 1(MCP1)和 IL-1 β mRNA 的表达水平没有差异。HFD 喂养的 GIPR^{adipo-/-}小鼠的 IL-6 mRNA 表达水平显著低于 WT 小鼠。在 HFD 喂养的条件下,两组之间的血浆脂联素和瘦素水平也无显著性差异(见表 5)。

此外研究了 GIP 对分化的 3T3-L1 脂肪细胞中 IL-6 表达影响。IL-6 mRNA 表达没有被 GIP 刺激所增强(图 3A)。GIP 处理后,细胞中 IL-6 水平显著增加,但 IL-6 水平的增加非常小(图 3B)。然而,GIP 显著增强了 IL-6 mRNA 表达(图 3C)和 IL-6 产生(图 3D)在存在 TNF- α 的 3T3-L1 脂肪细胞中,表明 GIP 增强了 TNF- α 诱导的 3T3-L1 脂肪细胞中 IL-6 的表达和产生。

表 2 HFD 喂养条件下,脂肪组织中 GIPR 缺乏对葡萄糖耐量和胰岛素的影响

Table 2 Effect of GIPR deficiency in adipose tissue on glucose tolerance and insulin under HFD-fed conditions				
	参数 Parameters	WT 小鼠 WT mice	GIPR ^{adipo^{-/-}} 小鼠 GIPR ^{adipo^{-/-}} mice	P 值 P value
OGTT	血糖水平 (mg/dL) Blood glucose levels (mg/dL)	171.28 ± 16.80	153.91 ± 15.49	0.652
	胰岛素水平 (pg/mL) Insulin levels (pg/mL)	52805.32 ± 699.83	17654.23 ± 352.87	0.031
	C-肽 (pg/mL) C-peptide levels (pg/mL)	8034.47 ± 231.98	2109.65 ± 76.95	0.008
	总 GIP 水平 (pg/mL) Total GIP levels (pg/mL)	620.65 ± 23.82	601.76 ± 34.97	0.239
	食物摄入 (g/d) Food intake (g/d)	4.12 ± 0.87	4.52 ± 0.98	0.126
	血糖 AUC (min × mg/dL) Blood glucose AUC (min × mg/dL)	48134.23 ± 562.87	38651.19 ± 509.76	0.256
	胰岛素 AUC (min × pg/mL) Insulin AUC (min × pg/mL)	52431.78 ± 604.19	39876.97 ± 409.23	0.321
	GIP AUC (min × pg/mL)	3987.76 ± 67.43	3865.17 ± 50.49	0.429
	HOMA-IR	49.54 ± 4.12	21.65 ± 1.84	< 0.001
	ITT	血糖 AUC (min × mg/dL) Blood glucose AUC (min × mg/dL)	23041.75 ± 398.87	14209.43 ± 354.64
PTT	血糖 AUC (min × mg/dL) Blood glucose AUC (min × mg/dL)	29865.46 ± 307.42	19763.19 ± 293.90	0.009

表 3 HFD 喂养 WT 和 GIPR^{adipo-/-} 小鼠空腹血脂水平

Table 3 Fasting plasma lipid levels in HFD-fed WT and GIPR ^{adipo-/-} mice			
参数 Parameters	WT 小鼠 (n=8) WT mice (n=8)	GIPR ^{adipo-/-} 小鼠 (n=8) GIPR ^{adipo-/-} mice (n=8)	P 值 P value
TG (mg/dL)	45.16 ± 3.71	30.62 ± 2.55	0.008
LDL-C (mg/dL)	16.72 ± 1.58	17.82 ± 1.36	0.521
HDL-C (mg/dL)	55.57 ± 4.18	61.33 ± 2.64	0.321
NEFA (μEq/L)	594.23 ± 153.86	452.34 ± 72.35	0.419

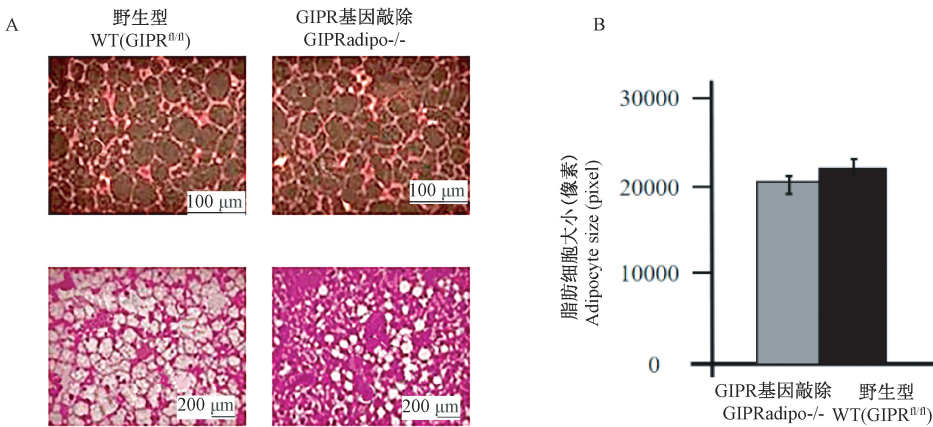


图 2 小鼠皮下脂肪免疫组化及肝的苏木精和曙红染色结果 (n=8)

Figure 2 Immunohistochemical results of subcutaneous fat and hematoxylin and eosin staining results of liver in mice (n=8)

表 4 HFD 喂养小鼠肝脂肪及胆固醇水平

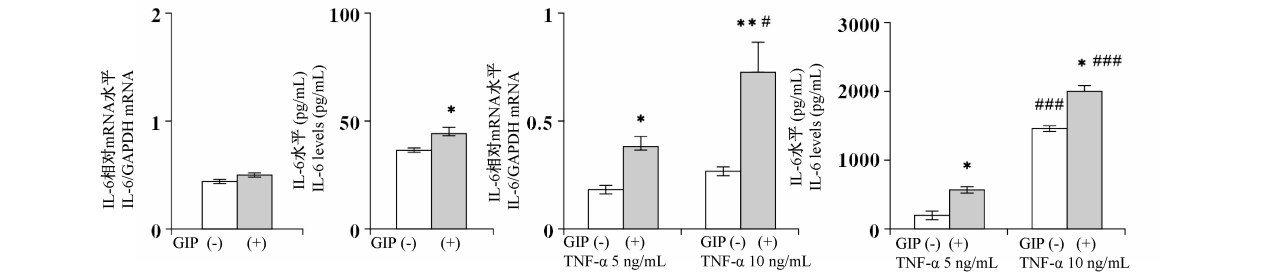
Table 4 Liver fat and cholesterol levels in HFD-fed WT and GIPR^{adipo-/-} mice

参数 Parameters	WT 小鼠 WT mice	GIPR ^{adipo-/-} 小鼠 GIPR ^{adipo-/-} mice	P 值 P value
肝体积 (cm ³) Liver volume (cm ³)	2.22 ± 0.18	1.42 ± 0.12	0.003
肝脂肪含量 (%) Fat content in liver (%)	37.63 ± 2.11	24.76 ± 2.84	0.008
肝重量 (g) Liver weight (g)	2.74 ± 0.21	1.82 ± 0.09	< 0.001
肝 TG 含量 (mg/g) TG content (mg/g)	250.61 ± 42.87	125.90 ± 21.84	0.004
肝总胆固醇含量 (mg/g) Total cholesterol content (mg/g)	594.22 ± 108.51	452.34 ± 96.42	0.421

表 5 HFD 喂养条件下相关炎症细胞因子相对 mRNA 表达水平 (n = 8)

Table 5 Relative mRNA expression levels of related inflammatory cytokines under HFD-fed conditions (n = 8)

参数 Parameters	WT 小鼠 WT mice	GIPR ^{adipo-/-} 小鼠 GIPR ^{adipo-/-} mice	P 值 P value
IL-6	1.81 ± 0.21	0.71 ± 0.05	0.032
TNF-α	0.95 ± 0.02	0.82 ± 0.03	0.167
MCP-1	1.46 ± 0.07	1.38 ± 0.08	0.249
IL-1β	1.26 ± 0.16	0.95 ± 0.04	0.356
血浆瘦素水平 Plasma leptin level	590.21 ± 106.43	486.43 ± 85.34	0.429
血浆脂联素水平 Plasma adiponectin level	2.45 ± 0.28	2.28 ± 0.19	0.187



注:与未处理组比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.05$;与 GIP 处理组比(5 ng/mL TNF-α), # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$ 。

图 3 在存在或不存在 TNF-α 的情况下,经 GIP(100 nmol/L)处理 24 h 的 3T3-L1 脂肪细胞中 IL-6 mRNA 表达水平和血浆 IL-6 水平

Note. Compared with untreated groups, * $P < 0.05$, ** $P < 0.05$. Compared with GIP treatment groups in the prescience of 5 ng/mL TNF-α, # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$.

Figure 3 IL-6 mRNA expression levels and plasma IL-6 levels in 3T3-L1 adipocytes treated with GIP (100 nmol/L) for 24 h with or without TNF-α

3 讨论

本研究采用超声评估了 GIP 在 GIPR^{adipo-/-}小鼠体内脂肪组织中的直接作用。与 HFD 喂养的 WT 小鼠相比,GIPR^{adipo-/-}小鼠表现出更低的体重,胰岛素抵抗降低和改善肝脂肪变性。

尽管食物摄入,能量消耗方面的差异不明显,但 GIPR^{adipo-/-}小鼠的体重增加明显低于 WT 小鼠。这种作用可能是由于 GIPR^{adipo-/-}小鼠从肠道吸收的

卡路里减少或用于检测小鼠之间体重差异的方法存在一定局限性。此外,超声分析发现和 WT 小鼠比,GIPR^{adipo-/-}小鼠肝重量、脂肪含量及肝体积下降。在 HFD 喂养的条件下,与 WT 小鼠相比,GIPR^{adipo-/-}小鼠肝重量减少对总体体重减轻的贡献约为 45%,说明体重的降低部分是由于 GIPR^{adipo-/-}小鼠肝重量的减少。已有研究发现与对照组 GIPR^{-/-}小鼠相比,具有 Ap2 启动子-GIPR 转基因的 GIPR^{-/-}小鼠体重增加,这不是由于脂肪量的增加而

是瘦肉质量的增加^[11]。

脂肪组织中由 GIPR 信号传导调节的关键分子可能与 HFD 诱导的胰岛素抵抗和肝脂肪变性有关,因为在由 HFD 喂养的 GIPR^{adipo-/-}小鼠中胰岛素抵抗和肝脂肪变性降低。对脂肪组织的微阵列分析显示,在 GIPR^{adipo-/-}小鼠的脂肪组织中,IL-6 的表达降低。IL-6 参与炎症和代谢过程的调节,IL-6 的循环水平与肥胖呈正相关,脂肪来源的 IL-6 在诱导胰岛素抵抗和肝脂肪变性中起关键作用^[12-13]。已有体外研究报道了 GIP 直接增加脂肪组织 IL-6 的表达水平^[14],GIP 还可激活脂肪组织中的 CREB^[15]。本研究结果表明 TNF- α 以剂量依赖的方式显著提高了 GIP 诱导的 IL-6 表达,表明在脂肪组织存在的情况下,GIP 可以增强脂肪组织中 IL-6 mRNA 的表达。

有文献指出,在人脂肪细胞中存在 TNF- α 的情况下,GIP 诱导 IL-6 mRNA 表达并增强 IL-6 分泌^[15]。与此一致,本研究在喂食 HFD 的 GIPR^{adipo-/-}小鼠的脂肪细胞中 IL-6 mRNA 表达降低。因此,GIPR^{adipo-/-}小鼠可能有助于研究 GIPR 在体内脂肪组织中表达的 GIPR 在肥胖和胰岛素抵抗中的作用。这些数据表明,在 HFD 诱导的胰岛素抵抗和肝脂肪变性的治疗中,GIP 信号的抑制可能具有作为治疗靶标的潜力。

总之,在体内,脂肪组织中的 GIPR 信号传导在 HFD 诱导的胰岛素抵抗和肝脂肪变性中起重要作用,这可能涉及 IL-6 信号传导。

参 考 文 献(References)

- [1] Brehm A, Pfeiler G, Pacini G, et al. Relationship between serum lipoprotein ratios and insulin resistance in obesity [J]. Clin Chem, 2019, 50(12): 2316-2322.
- [2] 肖丽红,周玉.早期 2 型糖尿病患者血清补体水平与肥胖、胰岛素抵抗的关系[J].广西医学,2019,41(11):1346-1348.
Xiao LH, Zhou Y. Relationship of serum complements levels with obesity and insulin resistance in patients with early type 2 diabetes mellitus [J]. Guangxi Med J, 2019, 41(11): 1346-1348.
- [3] Vafaieamaneh J, Parham M, Norouzi S, et al. Insulin resistance and coronary artery disease in non-diabetic patients: Is there any correlation? [J]. Caspian J Int Med, 2018, 9(2): 121-126.
- [4] Zhang L, Zhang L, Li L, et al. Neuroprotective effects of the novel GLP-1 long acting analogue semaglutide in the MPTP Parkinson's disease mouse model [J]. Neuropeptides, 2018, 71: 78-80.
- [5] 徐丹凤,谢华,陈敏,等.亚麻籽油对肥胖 2 型糖尿病小鼠体质量、血糖、胃肠激素水平的影响[J].山东医药,2019,59(32):5-7.
- Xu DF, Xie H, Chen M, et al. Effects of linseed oil on body weight, blood glucose and gastrointestinal hormone secretion in obese type 2 diabetic mice [J]. Shandong Med J, 2019, 59(32): 5-7.
- [6] Jirapinyo P, Haas AV, Thompson CC. Effect of the duodenal-jejunal bypass liner on glycemic control in patients with type 2 diabetes with obesity: a meta-analysis with secondary analysis on weight loss and hormonal changes [J]. Diabetes Care, 2018, 41(5): 1106-1115.
- [7] Kim SJ, Nian C, McIntosh CHS. GIP increases human adipocyte LPL expression through CREB and TORC2-mediated trans-activation of the LPL gene [J]. J Lipid Res, 2010, 51(11): 3145-3157.
- [8] Boylan MO, Glazebrook PA, Tatalovic M, et al. Gastric inhibitory polypeptide immunoneutralization attenuates development of obesity in mice [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2015, 309(12): 1008-1018.
- [9] Nasteska D, Harada N, Suzuki K, et al. Chronic reduction of GIP secretion alleviates obesity and insulin resistance under high-fat diet conditions [J]. Diabetes, 2014, 63(7): 2332-2343.
- [10] Xia MF, Bian H, Yan HM, et al. Assessment of liver fat content using quantitative ultrasonography to evaluate risks for metabolic diseases [J]. Obesity (Silver Spring), 2015, 23(9): 1929-1937.
- [11] Ugleholdt R, Pedersen J, Bassi MR, et al. Transgenic rescue of adipocyte glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor expression restores high fat diet-induced body weight gain [J]. J Bio Chem, 2011, 286(52): 44632-44645.
- [12] 苗同云,王刚,马凯,等.2 型糖尿病合并急性前循环脑梗死患者血清 IL-6、sRAGE 水平的变化[J].宁夏医学杂志,2019,41(9):789-790.
Miao TY, Wang G, Ma K, et al. Changes of serum IL-6 and sRAGE on type 2 diabetes mellitus patients with acute anterior circulation cerebral infarction [J]. Ningxia Med J, 2019, 41(9): 789-790.
- [13] 杨琴,王学惠.2 型糖尿病合并冠心病患者血 vaspin IL-6 水平与其心功能和胰岛素抵抗的相关性[J].安徽医学,2019,40(3):5-8.
Yang Q, Wang XH. Correlation of serum vaspin and IL-6 levels with cardiac function and insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus with coronary heart disease [J]. Anhui Med J, 2019, 40(3): 5-8.
- [14] Chen S, Okahara F, Osaki N, et al. Increased GIP signaling induces adipose inflammation via a HIF-1 α -dependent pathway and impairs insulin sensitivity in mice [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2015, 308(5): 414-425.
- [15] Mohammad S, Ramos LS, Buck J, et al. Gastric inhibitory peptide controls adipose insulin sensitivity via activation of cAMP-response element-binding protein and p110 β isoform of phosphatidylinositol 3-kinase [J]. J Bio Chem, 2011, 286(50): 43062-43070.